

**Beam splitter for use in a laser scanning microscope**

**Patent number:** DE19829954      **Also published as:**  
**Publication date:** 2000-01-05       JP2000075209 (A)  
**Inventor:** STOCK MICHAEL (DE); SIMON ULRICH (DE);  
WOLLESCHENSKY RALF (DE)  
**Applicant:** ZEISS CARL JENA GMBH (DE)  
**Classification:**  
- **international:** G02B21/00; G02B27/10  
- **european:** G02B21/06; G02B21/00M4  
**Application number:** DE19981029954 19980704  
**Priority number(s):** DE19981029954 19980704

**Abstract of DE19829954**

Beam splitter to divide excitation and emission radiation in a laser scanning microscope consists of colored glass plates (FT) arranged on a rotating splitter (TR).

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide



⑯ BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

⑯ **Offenlegungsschrift**  
⑯ **DE 198 29 954 A 1**

⑯ Int. Cl. 7:  
**G 02 B 21/00**  
G 02 B 27/10

**DE 198 29 954 A 1**

⑯ Aktenzeichen: 198 29 954.0  
⑯ Anmeldetag: 4. 7. 1998  
⑯ Offenlegungstag: 5. 1. 2000

⑯ Anmelder:  
Carl Zeiss Jena GmbH, 07745 Jena, DE

⑯ Erfinder:  
Stock, Michael, Dipl.-Ing., 99510 Apolda, DE;  
Simon, Ulrich, Dr., 07751 Rothenstein, DE;  
Wolleschensky, Ralf, Dipl.-Phys., 99510 Schöthen, DE

⑯ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht  
zu ziehende Druckschriften:

DE 44 04 286 C2  
DE 39 20 043 A1  
DE 39 15 421 A1  
DE 24 48 499 A1

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

⑯ Strahlteiler in einem Laser-Scanning-Mikroskop

**DE 198 29 954 A 1**

## Beschreibung

In Fig. 4 sind schematisch eine Mikroskopeinheit M und ein Scankopf S dargestellt, die eine gemeinsame optische Schnittstelle über eine Zwischenabbildung aufweisen und ein LSM bilden.

Der Scankopf S kann sowohl an den Phototubus eines aufrechten Mikroskopes sowie auch an einen seitlichen Ausgang eines inversen Mikroskopes angesetzt werden.

Es ist ein zwischen Auflichtscan und Durchlichtscan mittels eines schwenkbaren Spiegels 14 umschaltbarer mikroskopischer Strahlengang dargestellt, mit Lichtquelle 1, Beleuchtungsoptik 2, Strahlteiler 3, Objektiv 4, Probentisch 5, Kondensor 6, Lichtquelle 7, Empfängeranordnung 8, einer ersten Tubuslinse 9, einem Beobachtungsstrahlengang mit einer zweiten Tubuslinse 10 und einem Okular 11 sowie einem Strahlteiler zur Einkopplung des Scanstrahls dargestellt. Ein Lasermodul 13.1, 13.2 nimmt die Laser auf und ist über Monomode-Lichtleitfasern 14.1, 14.2 mit der Lasereinkoppeleinheit des Scankopfes S verbunden.

Die Einkopplung der Lichtleitfasern 14.1, 14.2 erfolgt mittels einer verschiebblichen Kollimationsoptik sowie Strahlumlenkelementen 17.1, 17.2.

Mittels eines teildurchlässigen Spiegels 18 wird ein Überwachungsstrahlengang in Richtung einer Monitordiode 19, der, vorteilhaft auf einem nicht dargestellten drehbaren Filterrad Linienfilter 21 sowie Neutralfilter 20 vorgeordnet sind, ausgeblendet.

Die eigentliche Scaneinheit besteht aus Scanningobjektiv 22, X/Y-Scanner 23, Hauptstrahlteiler 24 und einer gemeinsamen Abbildungsoptik 25 für Detektionskanäle 26.1–26.4.

Ein Umlenkprisma 27 hinter der Abbildungsoptik 25 spiegelt die vom Objekt 5 kommende Strahlung in Richtung dichroitischer Strahlteiler 28 im konvergenten Strahlengang der Abbildungsoptik 25, denen in Richtung und senkrecht zur optischen Achse verstellbare und in ihrem Durchmesser veränderbare Pinholes 29 individuell für jeden Detektionskanal sowie Emissionsfilter 30 und geeignete Empfängerelemente 31 (PMT) nachgeordnet sind.

Eine Ansteuereinheit/Rechnereinheit 34 ist vorgesehen, die unter anderem mit dem Tisch 5 und den Scannern 23 verbunden ist und sie ansteuert.

Der erfundungsgemäße Teilerrevolver TR und angrenzende Bauteile sind in Fig. 2 dargestellt.

Er kann vorteilhaft in den Strahlengang in Fig. 4 an der Stelle des Strahlteilers 24 zur Trennung von Anregung und Fluoreszenz oder der dichroitischen Strahlteiler 28 eingesetzt werden, wobei die dichroitischen Strahlteiler jeweils einen bestimmten oberen Strahlungsanteil durchlassen und den unteren in Richtung der nächsten Detektion reflektieren.

Die Ansteuerung des Motors des Teilerrevolvers kann über die Ansteuereinheit 34 in Fig. 4 erfolgen.

Über hier nicht dargestellte Codiermarken kann die jeweilige Stellung des Teilerrevolvers und damit der jeweils eingeschwenkte Strahlteiler erfaßt werden.

Die Darstellung erfolgt in Fig. 2 in Blickrichtung auf den transmittierten Strahl, wobei ein reflektierter Strahl Sr in der Darstellung wie angegeben verläuft.

Fig. 1 zeigt eine Seitenansicht aus der Richtung A in Fig. 2.

Fig. 3 stellt einen Längsschnitt durch den Teilerrevolver dar.

Der Teilerrevolver TR ist um 45 Grad zur Senkrechten geneigt, damit radiale Lageabweichungen des Revolvers keine Abweichung der Winkellage der enthaltenen Teiler bewirkt.

Er ist an ortsfesten Lagerstellen OF jeweils über eine Kugellagerung KL, vorzugsweise einseitig federnd, das heißt

spielfrei, abgestützt und in entsprechenden kegeligen oder kugelförmigen Ausnehmungen an der Antriebsachse A und an den Lagerstellen OF angelenkt.

Das eigentliche Teillerrad, das auf einer Achse A befestigt ist, weist Ausnehmungen auf, in denen die Farbteilergläser FT vorzugsweise wechselbar angeordnet sind.

Ein ebenfalls ortsfester Motor M treibt das Teillerrad TR über ein Ritzel R und einen am Teillerrad vorgesehenen Zahnkranz Z an, um zwischen verschiedenen Teilen zu wechseln.

Der Motor M wird von einer Ansteuereinheit angesteuert.

Vorteilhaft werden Farbgläser als Substrat für die wechselbaren Strahlteiler eingesetzt, beispielsweise für die Ein- und Multiphotonenfluoreszenz.

Die Filtersätze für die klassischen Fluoreszenzmikroskopie bestehen aus drei Bauteilen einem Anregungsfilter, einem Strahlteiler und einem Sperrfilter. Das Anregungsfilter kann auch durch die Ansteuerung eines AOTF oder AOM realisiert werden.

Der Strahlteiler trennt die Anregungsstrahlung von der Emissionsstrahlung. Hierbei kann die Anregungsstrahlung in die Probe reflektieren werden und die Emissionsstrahlung zur Detektion transmittieren werden. (Der umgekehrte Weg ist auch möglich, Transmission der Anregungsstrahlung, Reflexion der Emissionsstrahlung.)

In der Regel werden hier dichroitische Strahlteiler verwendet.

Das Emissionsfilter sperrt mit hoher optischer Dichte die Anregungsstrahlung und transmittiert die Fluoreszenzemission.

Erfundungsgemäß wird das Emissionsfilter dadurch ersetzt, daß als Substrat für den dichroitischen Strahlteiler ein geeignetes Farbglas verwendet wird.

Oberhalb der angegebenen Wellenlänge sind diese transmittierend und unterhalb reflektierend, so daß nur die zu erfassende Fluoreszenzstrahlung auf den Detektor gelangt.

Bei Anregung mit einem Bandpaß BP 546/12 wird beispielsweise ein Farbteiler FT 580 (Substrat OG 590 von Schott) verwendet.

Bei Anregung mit einem Bandpaß BP 4361/2 wird beispielsweise ein Farbteiler FT 460 (Substrat GG 475) verwendet.

Besonders geeignet für die konventionelle Fluoreszenz (1-Photonen) sind die Farbgläser mit Langpasscharakteristik: z. B.  
WG 280, 295, ..., 360,  
GG 375, 385, ..., 495  
OG 515, ..., 590  
RG 610, ..., RG 850

## Multiphotonenfluoreszenz

Für die Multiphotonenfluoreszenz erfolgt die Anregung langwellig und die Emission kurzwellig.

Besonders geeignet sind hier Farbgläser die die langwellige Anregungsstrahlung blocken z. B. das Absorptionsglas BG 39.

Bei Anregung TiSa Laser wird ein Farbteiler KP 685 (auf BG 39) verwendet. Emissionsfilter nicht notwendig, aber möglich z. B. als LP-Filter.

## Patentansprüche

Strahlteiler zur Trennung von Anregungs- und Emissionsstrahlung in einem Laser-Scanning-Mikroskop, die aus Farbgläsern bestehen und vorzugsweise auswechselbar, auf einem drehbaren Teilerrevolver angeordnet

sind.

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

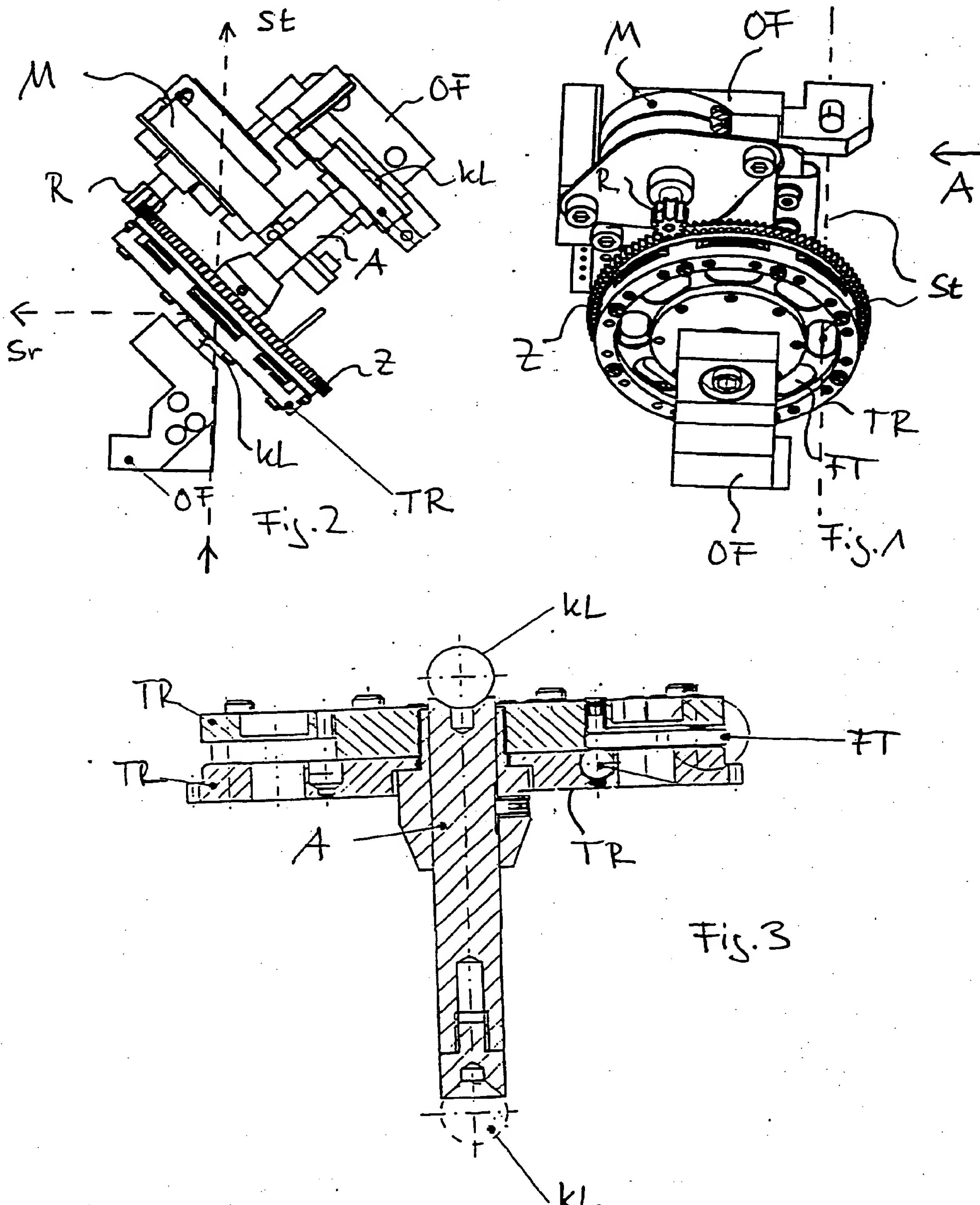


Fig. 4

